

## 迅速自動細菌検査装置の応用による健康学生口腔酵母叢の研究

古田 裕子\*・桑谷 伸一\*・青木 茂治\*\*・久和 彰江\*\*・小早川 ゆり\*\*\*  
浜田 元輔\*\*\*・清原 伸彦\*\*\*・長船 哲齊\*・\*\*\*\*・大和 眞\*\*\*\*

(平成 9 年 10 月 13 日受付, 平成 9 年 11 月 12 日受理)

### Study on Oral Yeast Flora of Healthy Students by Using the Vitek AutoMicrobic System

Hiroko FURUTA, Shinichi KUWATANI, Shigeji AOKI, Shoko ITO-KUWA,  
Yuri KOBAYAKAWA, Motosuke HAMADA, Nobuhiko KIYOKARA,  
Tetsuaki OSAFUNE and Makoto YAMATO

Oral yeasts, in particular *Candida* species, are known to cause opportunistic infections in the mouth of compromised patients. Reflecting the world-wide diffusion of HIV-infection, the risk of the opportunistic infections by oral yeasts has increased during recent years. Thus, it is important to know oral yeast flora in normal subjects. In the present study, we attempted to isolate yeasts from the mouths of a total of 53 healthy students (34 male and 19 female students) in 7 successive trials at one-week intervals and to identify the isolates by using the Vitek AutoMicrobic System. Although the number of sampling times ranged from 1 to 7 in the students, 108 strains were isolated in 269 isolation trials. The isolates were distributed in 13 species of the 6 genera, *Candida*, *Saccharomyces*, *Rhodotorula*, *Pichia*, *Cryptococcus* and *Trichosporon*. Of the 108 isolates, 73 (68%) were identified as *C. albicans*, followed by *S. cerevisiae* and other *Candida* species. Results obtained in the successive isolation trials showed that *C. albicans* is a member of normal microbial flora of the mouth.

**Key words:** AutoMicrobic System, Oral yeast flora, Identification

**キーワード:** 迅速自動細菌同定検査装置, 口腔酵母叢, 同定

#### はじめに

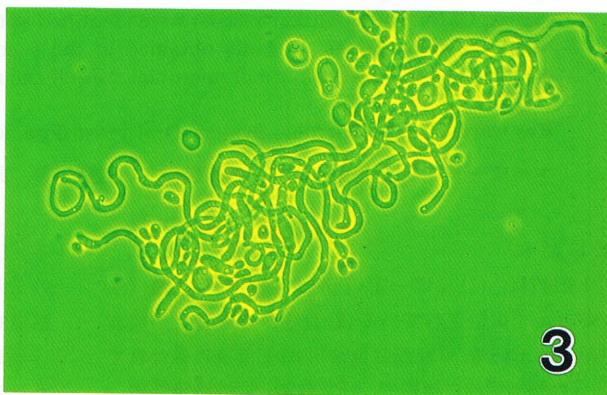
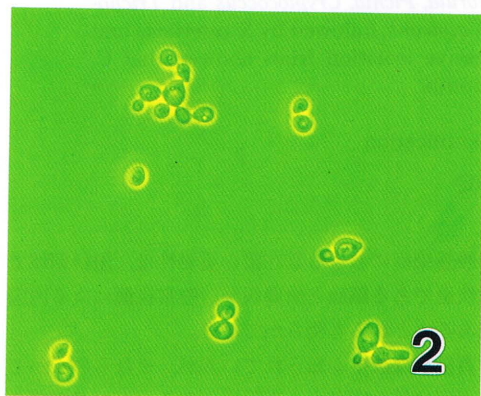
ヒト口腔は, (1) ほぼ一定の pH に保たれた唾液 (水分) がたえず供給されている (2) 食物から栄養分が豊富に供給されている, (3) 温度は常時 37℃前後に保たれている, (4) 解剖学的に複雑で, 好気性菌, 通性嫌気性菌, 嫌気性菌のいずれもが発育できる酸素分圧の部位があるなど, 微生物の発育には非常に適した条件を備えている。さらに口腔は微生物の侵入門戸であり, 飲食物, 空気, 手指, 器物などを介して, さまざまな微生物が侵入してくる。口腔に侵入した微生物の多くは, 一過性に存在する仮菌に終わる。しかし, 一部の微生物は永続的に口腔内に定住して常在菌となる。ヒト口腔には 30 種以上の微生物が常在し, 頬粘膜表面, 舌表面, 歯の表面, 歯肉溝, 唾液などに特有の常在微生物叢を形成してい

る。口腔感染症における常在菌の重要性は, 歯科領域での二大疾患である齲蝕と歯周病が口腔常在菌による内因感染であることから明らかである。

ヒト真菌症は数多く知られているが, それらのなかでカンジダ症は最も頻発する真菌症である。カンジダ症の起因菌として臨床的に分離される種類としては, *Candida albicans*, *C. glabrata* (*Torulopsis glabrata*), *C. guilliermondii*, *C. kefyr* (*C. pseudotropicalis*), *C. krusei*, *C. parapsilosis* (*C. parakrusei*), *C. tropicalis* が代表的なものである。これらのうち, *C. albicans* が最も病原性が高く, また分離頻度が高い<sup>1-3)</sup>。

カンジダ症は常在カンジダ酵母による日和見感染の一種であり, 健康時には感染を起こさない。しかし, 何らかの原因で抵抗力が低下した患者 (易感染性患者) に表

\* 自然科学, \*\* 日本歯科大学 (総合研), \*\*\* 運動方法 (水泳研究室), \*\*\*\* 体育研究所



在性あるいは深在性の感染を起こす。また、化学療法剤の投与による菌交代現象として起こることがある<sup>1)</sup>。カンジダ感染は癌、白血病、糖尿病などの患者で頻発するほか、臓器移植を受け、免疫抑制治療中の患者にも起こる。特に近年は、ヒト免疫不全ウイルス (HIV) 感染者およびエイズ患者の世界的蔓延に伴いカンジダ症、クリプトコックス症などが増加してきている。例えば、エイズ患者のほとんどは口腔カンジダ症を発症してくることが知られており、その予防と適切な治療の重要性が指摘されている<sup>4~8)</sup> (図 1)。さらに注目されることは、HIV 感染者においてエイズに進行する患者の割合は、口腔カンジダ症が初めて観察されてからの経過時間 (月数) に比例して増加することである<sup>9)</sup>。すなわち、口腔カンジダ症の初発からの経過月数とエイズ発症率をみると、12 カ月後では約 25%、24 カ月後では約 50%、36 カ月後では約 80% であった。したがって、口腔カンジダ症はエイズ進行の重要な臨床的予兆となっている。口腔カンジダ症はその病態により、鰐口瘡、義歯性口内炎、口角炎、カンジダ性白板症などに分けられているがいずれも表在性感染である<sup>1,2)</sup>。しかし、エイズ患者では口腔内にとどまらず、食道内にまでカンジダ感染が拡大する場合が多い。

このように口腔カンジダ症は日和見感染であることから、カンジダ酵母が健常者の口腔でどのような生息状況にあるかを知っておくことは非常に重要である。健常者の口腔からのカンジダ酵母などの酵母類の分離については、諸外国からの報告は多数みられるが、国内からの報告は少ない。さらに、カンジダ酵母の口腔内常在性のある期間継続的に調べた研究報告は、国内外で数報あるのみである。

われわれは、本学に迅速自動細菌検査装置 (Vitek AutoMicrobic System) が導入されたことを機会に、さまざまな教育環境における微生物検査を開始した。その手始めとして、本学水泳プール水の細菌検査の結果を先に報告した<sup>10)</sup>。同装置は一般細菌のみならず、カンジダ酵母を含む酵母様真菌類の迅速同定機能も備えている。

図 1 エイズ患者の口腔カンジダ症

カンジダ酵母が舌表面で白い苔状に増殖している。イタリア・トリノ大学感染症研究所に入院のエイズ患者を V. Vidotto 教授の許可を受け撮影した。

図 2 *Candida albicans* 酵母形細胞の顕微鏡写真  
母細胞から娘細胞が出芽している像が観察される。

図 3 *Candida albicans* 菌糸形細胞の顕微鏡写真

酵母形細胞を血清中に懸濁し、37℃でインキュベートすると酵母形細胞の一端から発芽管が伸び始め、やがて菌糸形態へと変わる。

図 4 蛍光色素 (ファンギフローラ Y) で染色した口腔癌患者のカンジダ症頬粘膜組織の顕微鏡写真  
蛍光色素で特異的に染色された酵母形および菌糸形カンジダ細胞が観察される。

本研究は本学健常学生を対象にして口腔内酵母の生息状況を調べ、併せて迅速自動細菌検査装置の酵母同定機能の有用性を確かめるために行った。

## 材料と方法

### 1. 試料採取対象者

本学の体育学部社会体育学科に在籍する男子学生 34 名、女子 19 名を対象にした。口腔からの試料採取は 1 週間間隔で 7 回行った。

### 2. 試料採取法

口腔からの酵母の採取はスワブ法で行った。滅菌綿棒で口腔内 (歯の表面、歯肉、舌の表面、頬粘膜など) を 2 分間よく拭いた後、サブロー寒天培地 (栄研) に塗抹した。1 日間 37℃で培養し、さらに一週間室温に放置した後シャーレ底面から低倍率の顕微鏡で観察し、酵母と確認されたコロニーを釣菌し、サブロー寒天培地で純培養した。なお、肉眼的および顕微鏡の形状の異なる酵母コロニーが同一寒天培地プレートに生育してきた場合には、それぞれを釣菌、純培養し、同定検査を行った。

### 3. 同定

純培養した酵母細胞を迅速自動細菌検査装置 (Vitek AutoMicrobic System: 日本ビオメリュー・バイテック社) のマニュアルに従い附属の酵母様真菌同定用カード (YBC card) に導入し、30℃で 24 時間インキュベートした後、同装置により同定した。酵母同定用カードは、被検酵母が 26 種類の基質を利用 (分解) できるか否かを調べ、9 桁のコードで表す。その結果をあらかじめ装置のコンピュータに内蔵されたデータベースと対応させ、被検酵母の種類を自動的に同定する。

## 結 果

試料採取は男子学生 34 名、女子学生 19 名 (計 53 名) を対象として、1 週間間隔で 7 回行った。しかし、7 回すべて試料採取できたのは男子 14 名、女子 3 名であった。その他の学生からの採取回数は、欠席などの理由により 6 回から 1 回にわたっていた。

表1 健康男子学生口腔から分離された酵母

学生番号	1回目 (0日)	2回目 (7日)	3回目 (14日)	4回目 (21日)	5回目 (28日)	6回目 (35日)	7回目 (42日)
1	—	<i>C. albicans</i>	—	—	—	<i>C. albicans</i>	—
2	—	—	—	—	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>	—
3	—	—	—	—	—	—	—
4	<i>R. glutinis</i>	—	—	—	—	—	—
5	—	<i>C. kefir</i>	—	—	—	—	—
6	—	—	—	—	—	—	—
7	—	—	—	—	—	—	<i>S. cerevisiae</i>
8	—	—	—	—	—	—	—
9	—	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i> <i>T. pullulans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
10	—	—	—	—	—	—	—
11	<i>C. albicans</i>	—	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
12	—	—	—	—	<i>S. cerevisiae</i>	—	<i>S. cerevisiae</i>
13	—	<i>Cr. neoform.</i>	—	—	—	—	<i>S. cerevisiae</i>
14	—	—	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i> <i>S. cerevisiae</i>
15		<i>C. albicans</i>	—	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. lambica</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
16		—	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i> <i>S. cerevisiae</i>
17		—	—	<i>C. albicans</i>	<i>S. cerevisiae</i>	—	—
18	—	—	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>		<i>C. albicans</i>
19	—	—	—	—	—		<i>S. cerevisiae</i>
20		—	—	—	—	<i>S. cerevisiae</i>	—
21	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i> <i>C. guillerm.</i> <i>C. parapsil.</i>			<i>C. albicans</i>
22		—	—	—	—	—	
23			—	—	—	—	—
24			—	—	—	—	—
25			—	—	<i>C. guillerm.</i>	—	<i>C. guillerm.</i>
26		—	<i>C. albicans</i>	—	—		
27				—	—	—	<i>C. albicans</i>

表1 (続き)

学生番号	1回目 (0日)	2回目 (7日)	3回目 (14日)	4回目 (21日)	5回目 (28日)	6回目 (35日)	7回目 (42日)
28		—			—		—
29				<i>C. albicans</i>	—		<i>C. albicans</i>
30				—	—		
31				<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>		
32		—	<i>P. ohmeri</i>				
33			—				
34				—			

注: 斜線は試料を採取しなかったことを示し, (—) は酵母が検出されなかったことを示す。

表2 健康女子学生口腔から分離された酵母

学生番号	1回目 (0日)	2回目 (7日)	3回目 (14日)	4回目 (21日)	5回目 (28日)	6回目 (35日)	7回目 (42日)
1	—	—	—	—	—	—	<i>T. pullulans</i>
2		—	—	<i>C. parapsil.</i>	—	—	<i>C. lambica</i>
3	<i>C. guillerm.</i>	—	—	—	—	—	<i>Cr. laurentii</i>
4	—	<i>C. albicans</i>		<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	—	<i>C. albicans</i> <i>C. lambica</i>
5	—	—	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>		<i>C. albicans</i>	—
6	—	—	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	
7		—	—	—	—	—	—
8	—	—	—		—		<i>C. albicans</i>
9		—		—	—	—	—
10		<i>C. albicans</i> <i>S. cerevisiae</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i> <i>S. cerevisiae</i>	<i>C. albicans</i>	
11	—	—	—	—	—		
12			<i>C. albicans</i>	—	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. lambica</i>
13			<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	—	—
14				<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i> <i>S. cerevisiae</i>
15	—	<i>C. albicans</i>				—	
16				—	—	<i>C. guillerm.</i>	
17				<i>R. glutinis</i>			
18				—			
19				<i>C. albicans</i>			

注: 表1に同じ。



表3 試料採取回数別の酵母検出回数と検出者数

採取回数 (男子/ 女子)	分離酵母種	酵母検出回数と検出者数 (男子/女子)							合計株数
		7	6	5	4	3	2	1	
7回 (14/3)	<i>C. albicans</i>		2/0	1/0			1/0		19
	<i>C. glabrata</i>						1/0		2
	<i>C. guilliermondii</i>							0/1	1
	<i>C. kefyr</i>							1/0	1
	<i>C. parapsilosis</i>							0/1	1
	<i>C. lambica</i>							0/1	1
	<i>S. cerevisiae</i>						1/0	3/0	5
	<i>R. glutinis</i>							1/0	1
	<i>Cr. neoformans</i>							1/0	1
	<i>Cr. laurentii</i>							0/1	1
	<i>T. pullulans</i>							1/1	2
6回 (6/4)	<i>C. albicans</i>			2/0	1/2	0/1		1/0	26
	<i>C. lambica</i>							1/1	2
	<i>S. cerevisiae</i>							4/0	4
5回 (5/6)	<i>C. albicans</i>				1/2	0/1		0/1	16
	<i>C. glabrata</i>							1/0	1
	<i>C. guilliermondii</i>						1/0	1/0	3
	<i>C. parapsilosis</i>							1/0	1
	<i>C. tropicalis</i>							0/1	1
	<i>C. lambica</i>							0/1	1
	<i>S. cerevisiae</i>						0/1		2
4回 (2/1)	<i>C. albicans</i>				0/1			2/0	6
	<i>S. cerevisiae</i>							0/1	1
3回 (2/2)	<i>C. albicans</i>						1/0	0/1	3
	<i>C. guilliermondii</i>							0/1	1
2回 (3/0)	<i>C. albicans</i>						1/0		2
	<i>P. ohmeri</i>							1/0	1
1回 (2/3)	<i>C. albicans</i>							0/1	1
	<i>R. glutinis</i>							0/1	1
合計									108

注：空欄は該当者無し (0/0) を示し，斜線は採取しなかったことを示す。

これら学生から各回に分離，同定された酵母類の状況は表1 (男子学生) および表2 (女子学生) にまとめた。そして，採取回数により区分けした学生群ごとに分離，同定された酵母の種類と株数は表3に示した。また，分離された酵母の種類別頻度は表4に総括した。

分離された酵母のなかでは，*C. albicans* が継続的に検出される頻度が高かった。すなわち，7回採取した男女学生合計17名のうち2名からは6回，1名からは5回 *C. albicans* が検出された (表1～3)。同様に，6回採取した学生10名のうち2名からは5回，3名からは4回

表4 健常学生口腔から分離された酵母種と百分率 (男女合計)

酵 母 種	分離株数	%
<i>C. albicans</i>	73	67.6
<i>C. glabrata</i>	3	2.8
<i>C. guilliermondii</i>	5	4.6
<i>C. kefyr</i>	1	0.9
<i>C. parapsilosis</i>	2	1.9
<i>C. tropicalis</i>	1	0.9
<i>C. lambica</i>	4	3.7
<i>S. cerevisiae</i>	12	11.1
<i>R. glutinis</i>	2	1.9
<i>P. ohmeri</i>	1	0.9
<i>Cr. neoformans</i>	1	0.9
<i>Cr. laurentii</i>	1	0.9
<i>T. pullulans</i>	2	1.9
合 計	108	100.0

*C. albicans* が検出された。採取 5 回以下の学生の場合も同じ傾向の結果が得られ、本酵母が口腔内に永続して生息する傾向が強いことが示唆された。

合計 53 名を対象として、延べ 269 回の試料採取により合計 108 株が分離された (表 4)。分離された酵母の種類は、6 属 13 種であった。*Candida* 属酵母としては *C. albicans* を筆頭にして *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. kefyr*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. lambica* の 7 種が分離された。パン酵母 *Saccharomyces cerevisiae*, 赤色酵母 *Rhodotorula glutinis*, *Pichia ohmeri* のほか、*Cryptococcus* 属の *Cr. neoformans*, *Cr. laurentii* も分離された。その他 *Trichosporon pullulans* が検出された。これらの分離株のうち *C. albicans* は 73 株 (67.6%) を占めていた。次に分離株が多かったのは *Saccharomyces cerevisiae* の 12 株 (11.1%), *C. guilliermondii* の 5 株 (4.6%), *C. lambica* の 4 株 (3.7%) で、他の種類は 1~3 株であった。分離回数が異なるものの *C. albicans* が 1 回でも検出された学生の割合は、男子で 34 名のうち 13 名 (38.2%), 女子で 19 名のうち 10 名 (52.6%) であった。

合計 269 回の試料採取のうち、3 種類の酵母が同時に検出された例が 1 回、2 種類の酵母が同時に検出された例が 9 回あった。その他は 1 種類の酵母のみが検出された。

## 考 察

口腔には *Candida* 属酵母を主とする酵母が生息して

いる。諸外国からの 20 報告の結果をまとめた Odds の総説<sup>1)</sup>によれば、健常者口腔から酵母が検出される平均頻度は 25% で、*C. albicans* の分離頻度は 18% である。日本人の場合、健康な男女 (年齢は 20 歳から 55 歳) の口腔からの *Candida* 属酵母の検出率は 32%<sup>11)</sup>、健康な男子学生および女子学生からの検出率はそれぞれ 29% および 17% との報告<sup>12)</sup>があるが、これらの研究では *Candida* 種の同定はなされていない。他の研究では健康な男子学生の歯垢から *Candida* 属酵母は 18% の頻度で検出され、分離された株の 89% は *C. albicans* であった<sup>13)</sup>。

口腔における酵母類の生息状況を、ある期間継続的に調べた研究は国内外で数報みられるのみである。Gerely and Uri<sup>14)</sup> は、健常者 10 名を連続 8 日間にわたり *C. albicans* の生息を調べた結果、6 日間および 8 日間連続して陽性だった者が各 1 名観察された。しかし、その他の被験者では日により陽性であったり、陰性であったり、変化が見られた。Williamson<sup>15)</sup> は *C. albicans* 陽性者 13 名について 1 カ月にわたり、唾液中の *C. albicans* の生息状況を追跡した。その結果、13 名のうち 11 名は日によって菌数には大きな変動があるものの、1 カ月をとおして連日 *C. albicans* 陽性であることを確かめ、本酵母は安定した口腔常在微生物の一種であると報告している。同様の実験<sup>11)</sup> が日本人健常者口腔についても行われており、10 名中 6 名からは 10 日間連続して *Candida* 酵母が検出された。しかし、この実験では検出株の種類は同定されていないので、はたして同一の *Candida* 種が分離されていたかは不明である。Ito-Kuwa ら<sup>16)</sup> は健常女子学生 (歯科衛生士専修学校および看護学院) 109 名を対象にして 1~3 週間間隔で 3 回、口腔酵母を分離、同定した。その結果、酵母の検出者の平均割合は 32% で、合計 107 株が分離され、うち 93 株 (87%) は *C. albicans* であった。109 名のうち 24 名 (22%) からは 3 回の試料採取すべてで酵母が分離されたが、うち 23 名からは 3 回とも *C. albicans* が分離され、残り 1 名からは *C. famata* が分離された。その他頻度は低かったものの *S. cerevisiae* と *Cr. laurentii* が分離された。

今回のわれわれの研究では、1 回から 7 回までの試料採取で酵母が検出された割合は、男子学生で 33% (60/181)、女子学生で 42% (37/80) で、平均すると 36% であった。そして *C. albicans* の分離頻度を求めると、男子学生では 24% (44/181)、女子学生では 33% (29/88)、平均すると 27% となった。この値はこれまで健常者で報告されている結果とほぼ一致している。

男子および女子学生の口腔から分離された酵母は、6

属 13 種類であった (表 4)。分離株数が最も多かったのは *C. albicans* で、次に *S. cerevisiae* が続いていた。分離された酵母の種類は、Ito-Kuwa ら<sup>16)</sup>の結果と比較して多様であった。この理由は確定できないが、対象学生の口腔清掃状況の違いが一因かも知れない。

ここで、分離された酵母の自然界での生息分布ならびに病原性<sup>17,18)</sup>について概観し、口腔から分離された意義について考察する。*Candida* 属では、*C. albicans* を初めとして *C. glabrata*, *G. guilliermondii*, *C. kefyr*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* の 7 種が分離された。*C. albicans* はヒト真菌症の起因菌として最も高い頻度で分離される。この酵母の特徴は、環境条件によって卵円形の酵母形細胞としても、また細胞が伸長した菌糸形細胞としても生育する二形性真菌であることである (図 2, 3)。宿主組織に侵入した酵母形細胞は、その一端から発芽管を伸ばし、菌糸形へと転換する。したがって、感染組織内では酵母形細胞と菌糸形細胞の両者が観察される (図 4)。本酵母の病原因子としては菌体外に産生するたんぱく分解酵素とリン脂質分解酵素が有力視されているが、病原性発現と細胞形態との関係も注目されている<sup>1,19)</sup>。すなわち、カンジダ細胞が感染組織へ侵入するには酵母形より菌糸形の方が有利であり、感染組織で菌糸形細胞が多く観察されるのは、これを反映しているのではないかと推論されている。

*Candida glabrata*, *G. guilliermondii*, *C. kefyr*, *C. parapsilosis* および *C. tropicalis* は、*C. albicans* に比較するとヒト臨床試料から分離される頻度は低い種類である。病原性も *C. albicans* に比較すると弱いが、極度に免疫能が低下した患者では日和見感染を起こすことが知られている。しかし、これらの *Candida* 属酵母が口腔から検出されても、健常者の場合には病原性が問題となることはないと考えられる。*C. lambica* は *Pichia fermentans* の無性世代型 (不完全型) で、乳製品や果物ジュースなどのほか、ヒトからも分離されるが、病原性はない酵母である。*S. cerevisiae* はパン酵母あるいはビール酵母として日常生活の中で接する頻度の高い酵母であり、口腔から分離されたのも食品などを介して口腔に入った可能性が考えられる。赤色酵母 *R. glutinis* は自然界に広く生息する酵母で、ヒトに対しての病原性は極めて低い。*P. ohmeri* は *C. guilliermondii* の有性世代型 (完全型) であり、塩漬けキュウリ、ペッパーなどから分離され、ヒトからも検出されることがある酵母種である。*Cryptococcus* 属としては、*Cr. neoformans* と *Cr. laurentii* が検出された。*Cr. neoformans* はカンジダ症と並んで代表的ヒト真菌症であるクリプトコックス症の起因

菌で、自然界ではハトの糞堆積物から高率で分離されることはよく知られている。ヒトに対しては、中枢神経系に重篤な感染を起こす。特に近年は、HIV 感染者に対してかなりの高率で感染を起こすことが報告されてきている<sup>6,8)</sup>。*Cr. laurentii* は植物 (花や葉)、土壌などの自然界に生息しており、ヒトに対する病原性は低い酵母である。*T. pullulans* は自然界では樹液、パルプなどに生息しているが、バターや冷凍肉などからも検出される。*Trichosporon* 属の分類については、まだ未確定のところがあるが、この属の酵母のなかにはヒトの皮膚、爪、口腔などに常在菌として生息しているものもあるので、*T. pullulans* が口腔から分離されたのも、このような自然界分布を反映しているものと推定される。

以上のように、今回分離された酵母種のうち頻度が低い種類は、口腔に一過性に生息していた可能性が高いと考えられる。したがって、これらの酵母が口腔内から分離されたとしても、健常者においては病原性は問題にならないと考えられる。

口腔酵母の生息状況を調べるための試料採取法には、今回の実験で用いた綿棒によるスワブ法と唾液を材料とする方法がある。スワブ法は口腔のさまざまな部位から菌を採取できる利点がある一方、菌数の定量性に関しては唾液を用いた方法には劣ると考えられる。しかし、データは示さなかったが、試料を塗抹したサブロー寒天培地に生育してきたコロニー数は、検出回数が多い学生の場合の方が、散発的に検出される学生の場合より多い傾向が見られた。この結果は、*C. albicans* のように継続して検出される酵母はある程度の菌数が安定して口腔に生息しているのに対して、散発的に検出される場合には一過性に生息していた可能性が高いことを示唆している。Ito-Kuwa ら<sup>16)</sup>も同様の結果を報告している。

口腔カンジダ症は抗真菌剤による治療で完治したかのように見えても、ある期間を経ると再発し、以後治療と再発を繰り返すことが多い。われわれの共同研究者でもあるイタリア・トリノ大学感染症研究所のグループは、口腔カンジダ症の再発を繰り返すエイズ患者から *C. albicans* を分離し、その生物型 (同じ微生物種であるが形態学的、生理学的あるいは遺伝学的性状の違いで鑑別される一群の菌株) を 24 種類のキラース酵母 (他種の酵母に対して致死作用を示すキラートキシンと呼ばれる毒素を産生する酵母) に対する感受性の違いを利用して調べた<sup>20)</sup>。その結果、同じ患者で再発を繰り返す間に、*C. albicans* の生物型がかなりの頻度で変化してくることを明らかにした。しかし、この生物型の変化が、感染していた株が抗真菌剤治療により一度消滅し、それに代



わって新しい株が感染を起こしたためなのか、あるいは前から感染を起こしていた株が抗真菌剤などにより生理的あるいは遺伝的に変化したためなのかは、現在のところ不明である。Nakamura ら<sup>21)</sup> は、前述の Ito-Kuwa ら<sup>16)</sup> の実験で女子学生から3回の採取で連続して分離された *C. albicans* の生物型を、5種類の化学物質に対する感受性の違いから調べた。その結果、22名のうち7名では3回とも同じ生物型の株が分離され、6名では3回のうち2回は同じ生物型の株が分離された。残りの9名では3回とも異なった生物型株が分離された。これらの結果は、健常者口腔内に生息する *C. albicans* でも生物型の変化がある程度起っていることを示唆している。今回の実験では対象学生により試料採取回数に変動があり、生物型の変化を調べるには至らなかった。この問題については今後の検討を待ちたい。

先にわれわれは迅速自動細菌検査装置を本学水泳プールの細菌検査のために応用した例を報告した<sup>9)</sup>。現在、先の研究を発展させて、より継続的、組織的に調査している。今回の研究では同装置が備えている酵母同定機能の確認、評価を兼ねて、健常学生の口腔酵母の生息状況を調べた。迅速自動細菌検査装置は医学的に重要な12属36種の酵母様真菌を同定する機能を備えている。上に記載した酵母類は同装置により非常に高い確率で同定され、その信頼性が確認された。しかし、同装置の検査だけでは同定されない酵母が数種分離された。これらの酵母については、形態学的ならびに生理学的追加確認実験が必要であり現在検討中である。

## 謝 辞

貴重な御助言を戴いた衛生学・公衆衛生学研究室 伊藤 孝教授に厚く御礼申し上げます。エイズ患者の撮影を許可いただいたイタリア・トリノ大学感染症研究所 Varello Vidotto 教授に感謝いたします。

本研究の一部は平成9年度、文部省科学研究費・基盤研究(C)第09640795号、平成7年度、文部省科学研究費・総合研究(A)第07304082号、文部省科学研究費・基盤研究(C)第07640884号の援助によって行われた。

## 引用文献

- 1) Odds, F. C.: *Candida and Candidosis*. 2nd ed. Bailliere Thindall, London (1988).
- 2) Roseff, S. A. and Sugar, A. M.: Oral and esophageal candidiasis. In: *Candidiasis: Pathogenesis, Diagnosis and Treatment* (ed. by Bodey, G. P.), pp. 185-203, Raven Press, New York (1993).

- 3) Heimdahl, A. and Nord, C. E.: Oral yeast infections in immunocompromised and seriously diseased patients, *Acta Odontol. Scand.*, **48**, 77-84 (1990).
- 4) Reichard, P. A., Gelderblom, H. R., Becker, J. and Kuntz, A.: AIDS and the oral cavity. The HIV-infection: virology, etiology, origin, immunology, precautions and clinical observations in 110 patients, *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.*, **16**, 129-153 (1987).
- 5) Samaranayake, L. P. and Holmstrup, P.: Oral candidiasis and human immunodeficiency virus infection, *J. Oral Pathol. Med.*, **18**, 554-564 (1989).
- 6) Dupont, B., Graybill, J. R., Armstrong, D., Laroche, R., Trouze, J. E. and Wheat, L. J.: Fungal infections in AIDS patients, *J. Med. Vet. Mycol.*, **30** (Suppl. 1), 19-28 (1992).
- 7) Dupont, B., Denning, D. W., Marriott, D., Sugar, A., Viviani, M. A. and Sirisanthana, T.: Mycoses in AIDS patients, *J. Med. Vet. Mycol.*, **32** (Suppl. 1), 65-77 (1994).
- 8) Comioti, A., Cinque, P. and Lucht, E.: AIDS e Malattie del Cavo Orale (ed. by Lazzarin, A.), ANLAIDS Sezione Lomarda. Milano (1996).
- 9) Moniaci, D., Greco, D., Flecchia, G., Raiteri, R. and Sinicco, A.: Epidemiology, clinical features and prognostic value of HIV-1 related oral lesions, *J. Oral Pathol. Med.*, **19**, 477-481 (1990).
- 10) 古田裕子, 小早川ゆり, 大本洋嗣, 浜田元輔, 清原伸彦, 青木茂治, 江原友子, 長船哲齊, 大和眞: 教育環境の細菌学的調査への迅速自動細菌検査装置の応用, *日本体育大学紀要*, **26**, 261-265 (1997).
- 11) 浅香次夫: 口腔内 *Candida* の生態学的研究, *口衛誌*, **21**, 90-104 (1971).
- 12) 小幡哲夫, 亀谷博昭, 仲村正夫, 奥村晴一, 中村武, 米沢和一: 各種疾患患者の口腔から分離される *Candida* の意義, *歯科学報*, **72**, 767-772 (1972).
- 13) 中村長隆, 尾上孝利, 梅本俊夫, 河原邑安, 佐川寛典, 三谷春保: 義歯床粘膜面に付着した denture plaque 中の真菌生息に及ぼす諸因子の検討, *補綴誌*, **27**, 863-869 (1983).
- 14) Gerley, L. and Uri, J.: Day-by-day variation in the mycotic flora of the mouth, *Arch. Oral Biol.*, **11**, 15-19 (1966).
- 15) Williamson, J. J.: A study of extent of variation in daily counts of *Candida albicans* in saliva, *Aust. Dent. J.*, **17**, 106-109 (1972).
- 16) Ito-Kuwa, S., Nakamura, Y., Aoki, S., Nakamura, K., Vidotto, V. and Sinicco, A.: Oral yeasts isolated from normal subjects in three successive trials, *Jpn. J. Oral Biol.*, **39**, 100-106 (1997).

- 17) Barnett, J. A., Payne, R. W. and Yarrow, D.: Yeasts: Characteristics and Identification, 2nd ed., Cambridge Univ. Press, Cambridge (1990).
- 18) Larone, D. H.: Medically Important Fungi: A Guide to Identification, 3rd ed. AMS Press, Washington (1995).
- 19) 仲村健二郎, 久和彰江, 青木茂治, 中村康則, 竹尾漢治: *Candida albicans* 集落形態変異株の生物学的性状と病原性, 歯学, 27, 635-648 (1997).
- 20) Bruatto, M., Vidotto, V., Marinuzzi, G., Raiteri, R. and Sinicco, A.: *Candida albicans* biotypes in human immunodeficiency virus type 1-infected patients with oral candidiasis before and after antifungal therapy, J. Clin. Microbiol., 29, 726-730 (1991).
- 21) Nakamura, K., Ito-Kuwa, S., Nakamura, Y., Aoki, S., Vidotto, V. and Sinicco, A.: Resistogram typing of oral *Candida albicans* isolates from normal subjects in three successive trials, Rev. Iberoam. Micol. (in press).